

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Jana Nová

Energetický metabolismus mozku a jeho patologie

Brain energy metabolism and its pathologies

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Petr Telenský, Ph.D.

Praha, 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 15. 8. 2016

Jana Nová

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli Mgr. Petru Telenskému, Ph.D. za odborné vedení mé práce a své rodině a přátelům za podporu.

Abstrakt

Mozek patří mezi metabolicky nejaktivnější orgány a poruchy energetického metabolismu mozku jsou stále častěji citovány jako významný faktor přispívající k rozvoji neurodegenerativních onemocnění. Metabolické substráty využívané CNS musí být přísně regulovány v čase i prostoru tak, aby byla zajištěna energetická homeostáza mozku. Výzkum energetického metabolismu mozku stanovil několik modelů odhalujících vzájemnou provázanost metabolických pochodů v CNS.

Klíčová slova: energetický metabolismus, mozek, neurodegenerativní onemocnění, glukózový metabolismus, metabolismus ketolátů

Abstract

The brain belongs amongst metabolically most active organs and disturbances of brain energy metabolism are commonly cited as a critical factor predisposing to neurodegeneration. Brain metabolic substrates must be strictly regulated both spatially and temporarily to ensure the energy homeostasis of the brain. Research on energy metabolism of the brain identified several models revealing the interdependence of metabolic processes in the CNS.

Key words: energy metabolism, brain, neurodegenerative disorders, glucose metabolism, ketone body metabolism

Obsah

1 Úvod	7
2 Metabolické substráty CNS.....	7
2.1 Glukóza	7
2.1.1 Příjem glukózy do buněk.....	7
2.2 Laktát.....	8
2.2.1 Příjem laktátu do buněk.....	8
2.3 Ketolátky	9
3 ANLS	10
4 Metabolický profil neuronů.....	11
5 Metabolický profil astrocytů	12
6 Regulační mechanismy energetického metabolismu	13
6.1 Kontrola průtoku krve mozkem	13
6.2 Kyslík jako signální molekula neurovaskulárního spřažení.....	15
6.3 Pericyty.....	15
7 Závěr.....	15
Seznam literatury.....	16

Seznam zkratek

ANLS	astrocyte-neuron lactate shuttle
ATP	adenosintrifosfát
CNS	centrální nervová soustava
GLUT	glukózový transportér
MCT	monokarboxylátový transportér
NMDA	N-methyl-D-aspartát
NO	oxid dusnatý
NOS	syntáza oxidu dusnatého
PFKFB	6-fosfofrukto-2-kináza/fruktóza-2,6-bifosfatáza

1 Úvod

Lidský mozek je považován za nejkomplexnější strukturu ve známém vesmíru. Tato komplexní struktura vyžaduje velký přísun energie pro své správné fungování - ačkoli z hlediska objemu tkáně tvoří lidský mozek pouhých 2% hmotnosti těla, 20% veškerého kyslíku a 25% veškeré glukózy, které lidské tělo přijme, směřuje do nervové tkáně.

Uchování energetické homeostáze mozku je zásadní pro jeho správné fungování a bioenergetické poruchy jsou stále častěji citovány jako faktor přímo související s rozvojem některých neurodegenerativních onemocnění.

Cílem této práce je shrnout základní poznatky o metabolických substrátech využívaných CNS, základních buněčných a molekulárních mechanismech energetické homeostázy mozku a souvislostech mezi neurodegenerativními onemocněními a bioenergetickými poruchami nervové tkáně.

2 Metabolické substráty CNS

V této části práce si uvedeme, které látky jsou užívány CNS jakožto energetický substrát a za jakých podmínek.

2.1 Glukóza

Za normálních fyziologických podmínek hraje glukóza v mozku dospělého člověka klíčovou roli a je považována za obligatorní energetický substrát, který je možné nahradit pouze za specifických podmínek. Po vstupu do buňky (s výjimkou buněk endoteliálních) je glukóza vždy přeměněna na glukózu-6-fosfát, a to pomocí enzymu hexokinázy. Po této přeměně je glukóza-6-fosfát dále zpracovávána různými metabolickými drahami, mezi něž mimo jiné patří glykolytická dráha, pentózofosfátový cyklus či glykogeneze. Nehledě na výběr metabolické dráhy, glukóza je ve výsledku téměř celá oxidována na vodu a oxid uhličitý (Clarke & Sokoloff, 1999).

2.1.1 Příjem glukózy do buněk

Pro vstup glukózy do buněk v CNS jsou nezbytné receptory přítomné na povrchu těchto buněk. Obecné označení rodiny specifických glukózových transportérů je GLUT a v lidském mozku nalezneme několik typů těchto transportérů.

GLUT1 je glukózový transportér, který je možné nalézt na buňkách endoteliální membrány, na povrchu astrocytů, mikroglíí a oligodendrocytů. Zprostředkovává transport glukózy nejprve přes endoteliální membránu (součást hematoencefalické bariéry) do extracelulární tekutiny mozku a poté z této tekutiny dále do astrocytů, mikroglíí či oligodendrocytů.

GLUT3 je glukózový transportér nacházející se na povrchu neuronů, zprostředkovává tedy příjem glukózy do tohoto typu buněk. Je známo, že GLUT3 má obecně vyšší transportní kapacitu než GLUT1, díky čemuž je zajištěna dostatečná koncentrace glukózy uvnitř neuronů i za lišících se aktuálních podmínek nervové tkáně (Simpson, 2007).

Již v 80. letech vyšlo najevo, že glukóza je do buněk přijímána zejména v místech tzv. neuropilu, spíše než v místech těl neuronů (Kadekaro, 1987).

2.2 Laktát

Laktát, neboli sůl kyseliny mléčné, je substrát, který mozek ve zvýšené míře využívá nejčastěji během období intenzivní fyzické zátěže (van Hall, 2009). Právě tato látka byla v posledních letech předmětem intenzivního zájmu vědců. V extracelulární tekutině mozku je koncentrace laktátu velice podobná koncentraci glukózy (přibližně v rozpětí mezi 0,5 a 1,5 mM). Roste tedy počet důkazů, že laktát představuje důležitý zdroj energie a není jen metabolickým odpadem, jak se po mnoho let věřilo (Schurr, 1999; Gallagher, 2009; Smith, 2003; Boumezbeur, 2010).

2.2.1 Příjem laktátu do buněk

Laktát vstupuje do buněk přes transportéry z rodiny MCT, pro které je specifický symport dané látky s protonem. Celý mechanismus funguje tak, že se na transportér nejprve naváže proton a až poté transportovaná látka, tj. v tomto případě laktát. Celý přenos je tak elektroneutrální.

MCT1 zajišťuje průchod zejména laktátu, ale i pyruvátu, beta-hydroxybutyrátu a acetoacetátu skrze plazmatickou membránu buněk. MCT1 byly nalezeny na astrocytech, endoteliálních buňkách hematoencefalické bariéry a na neuronech čerstvě narozených myší (nikoliv však na neuronech dospělců).

MCT2 je v mozku méně hojný než MCT1 a lze ho nalézt zejména na neuronech, i když izolován byl i z astrocytů a endoteliálních buněk hematoencefalické bariéry. Exprese MCT2 se vztahuje zejména k oblastem, kde je vysoká hustota synaptických spojení a relativně nízká hustota těl samotných buněk. Úkolem MCT2 je transportovat laktát přes plazmatickou membránu směrem do buněk, kde dochází k jeho oxidaci a energetické nároky okolní mozkové tkáně tak mohou být uspokojeny (Mac & Nalezc, 2002).

MCT4 je transportér, který je obecně exprimován v glykolytické tkáni, v případě mozku se tak jedná o astrocyty. Jeho afinita k substrátu, tj. laktátu či pyruvátu, je nižší než u obou předchozích typů MCT. MCT4 se stará o export laktátu, získaného během glykolýzy, ven z buněk (Halestrap, 2012).

2.3 Ketolátky

Ketolátky jsou pro lidský mozek alternativním zdrojem energie, a to v období hladovění, při dietě chudé na sacharidy a bohaté na tuky (tedy při tzv. ketogenní dietě) a také během vývoje mozku. Známé jsou tři druhy ketolátek: acetoacetát, beta-hydroxybutyrát a aceton, všechny jsou produktem rozpadu mastných kyselin. Mozek je z těchto ketolátek schopen využít první dvě zmíněné, tedy acetoacetát a beta-hydroxybutyrát.

Přeměna mastných kyselin na ketolátky probíhá v jaterní tkáni, která je ovšem dále pro své potřeby nedokáže využít a krevním řečištěm jsou tak ketolátky přenášeny dále do těla k dalšímu využití, zejména do mozku.

Po vstupu do mozku jsou ketolátky, acetoacetát a beta-hydroxybutyrát, přeměněny na acetyl-CoA, který následně vstupuje do Krebsova cyklu.

Výzkumy také bylo zjištěno, že ketolátky v mozku slouží jako zdroj uhlíku pro syntézu glutamátu, jednoho z nejdůležitějších neurotransmiterů, a pomáhají tak udržet v rovnováze poměr mezi glutamátem a glutaminem (LaManna, 2009).

Zajímavou skutečností se jeví fakt, že i astrocyty byly shledány jako ketogenní buňky. Ketolátky, které astrocyty vyprodukují, mohou sloužit jako substrát pro energetický metabolismus neuronů (Guzmán & Blázquez, 2003).

3 ANLS

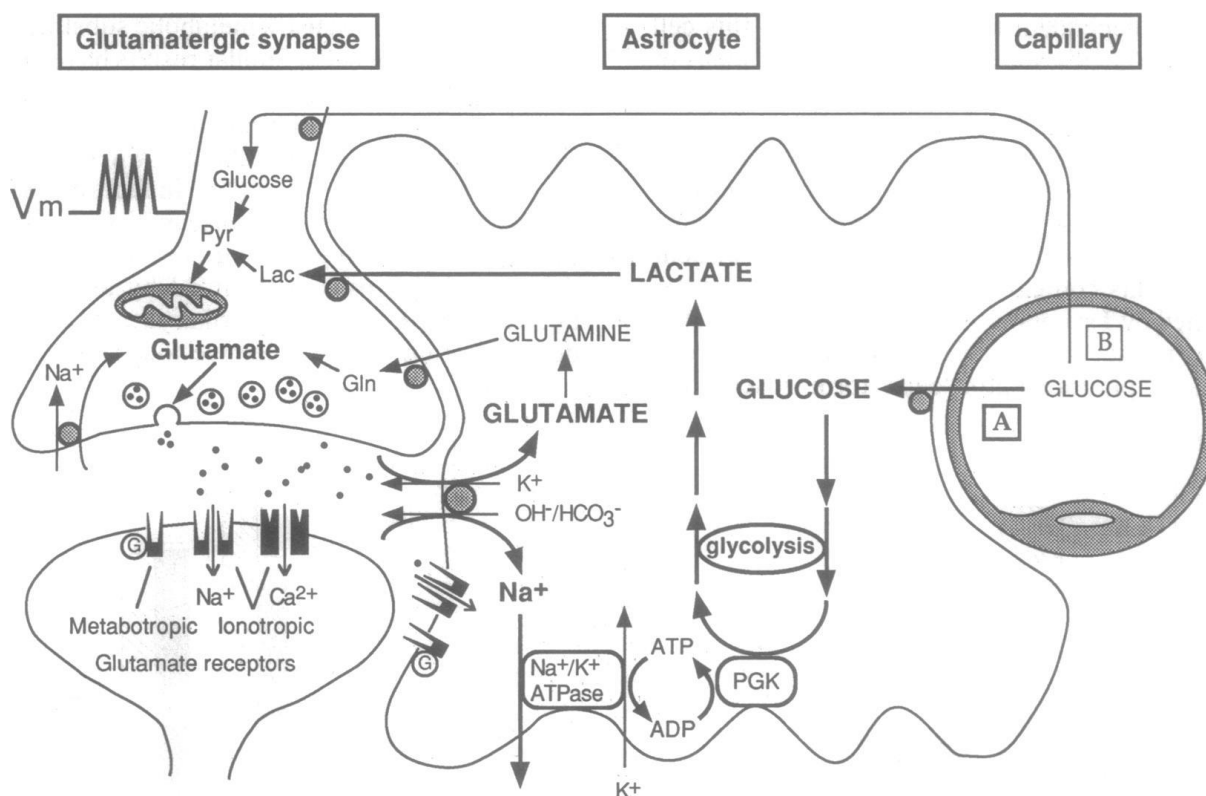
ANLS, neboli astrocyte-neuron lactate shuttle, představuje jeden z nejslavnějších teoretických modelů na poli energetického metabolismu mozku a mnoho vědců na něj po dlouhá období soustředila svoji pozornost. Koncept ANLS byl představen Lucem Pellerinem a Pierrem Magistretti v roce 1994 (Pellerin & Magistretti, 1994) a od té doby měl své četné zastánce i odpůrce. V posledních několika letech výsledky experimentů *in vitro* i *in vivo*, provedených několika nezávislými skupinami na sobě, stvrzují předpoklady tohoto modelu.

Jádrem modelu ANLS je spřažení neurální aktivity a utilizace glukózy. Základ modelu, tak jak ho Pellerin s Magistretti předložili, je následující. Glutamát je nejhojnější excitační neurotransmitter v mozku a byl rozpoznán jako faktor spouštějící příjem glukózy do astrocytů. Mechanismus je takový, že při zvýšené neurální aktivitě se glutamát uvolní do synaptické štěrby, odkud je rychle odstraněn Na^+ dependentním mechanismem (tento mechanismus se nachází jak na astrocytech, tak na neuronech). Glutamát je tedy kotransportem s Na^+ ionty přepraven do astrocytárních buněk (při transportu se přes membránu přenáší 1 molekula glutamátu a 3 Na^+ ionty, případně 1 molekula glutamátu a 2 Na^+ ionty a jeden proton). Zvýšená koncentrace Na^+ v cytosolu má za následek aktivaci Na^+/K^+ ATPázy, která Na^+ přenáší zpět do extracelulárního prostoru a současně importuje K^+ do cytosolu (poměr tohoto procesu jsou 3 transportované ionty Na^+ na 2 ionty K^+). Jelikož se jedná o ATPázu, není tento děj energeticky pasivní, ale vyžaduje pro své fungování přísun energie v podobě ATP. Tím se zvyšují celkové energetické nároky astrocytu, což vede k příjmu glukózy do buněk z okolních kapilár. Tato glukóza je glykolýzou přeměněna na laktát, který je následně astrocytem transportován ven z buňky, odkud je ihned opět transportován, tentokrát do neuronů. V neuronech laktát vstupuje do Krebsova cyklu a slouží tedy jako energetický substrát.

Experimentální důkaz podporující tuto hypotézu byl založen na sledování osudu 2-Deoxy-D-[1,2- ^3H]glukózy, tedy analogu glukózy, po jejím přidání do primární kultury astrocytů. Bylo možno sledovat její příjem do buněk a následné uvolňování laktátu do extracelulárního prostoru (Pellerin & Magistretti, 1994).

Je nutné zdůraznit, že ANLS model je v souladu s poznatky o metabolickém fungování astrocytů i neuronů. Oba typy buněk totiž mají vlastní metabolickou

charakteristiku, která se navzájem v určitých klíčových bodech liší. Zde předkládáme ty nejdůležitější rysy metabolického fungování jak neuronů, tak astrocytů.



Obrázek č. 1: ANLS model (převzato z Pellerin & Magistretti, 1994).

4 Metabolický profil neuronů

Neurony vykazují vysoké energetické nároky, jejich metabolické pochody tedy musí být efektivně nastaveny tak, aby byly tyto nároky schopny pokrýt. Metabolismus neuronů je tedy primárně oxidativní, proces oxidativní fosforylace zajišťuje vysoký výtěžek ATP.

V četných pokusech bylo zjištěno, že při zvýšení neurální aktivity nedochází ke zvýšenému příjmu glukózy do neuronů, i přesto, že za těchto podmínek (zvýšená neurální aktivita) jsou energetické požadavky neuronů vyšší než v klidovém stadiu, zato byl pozorován zvýšený příjem glukózy do astrocytů (Loaiza, 2003; Porras, 2004). Ukázalo se, že substrátem, jež neurony transportují do svých buněk za účelem pokrytí energetických nároků, je laktát. Po vstupu do nervové buňky je laktát transportován do mitochondrií, kde je zapojen do Krebsova cyklu.

Obecně je míra glykolýzy v neuronech držena na nízké hodnotě. Děje se tak mechanismem proteozomální degradace enzymu PFKFB3 (6-fosfofrukto-2-kináza/fruktóza-2,6-bifosfatáza 3), nezbytného k průběhu glykolýzy (Herrero-Mendez, 2009).

Neurony (až na pár nalezených výjimek) nemají žádnou vlastní energetickou zásobu, tato úloha je přenechána astrocytům, ve kterých probíhá syntéza glykogenu. Enzym zodpovědný za syntézu glykogenu, tedy glykogen syntáza, nicméně v neuronech prokazatelně přítomen je. Existují ovšem mechanismy, které syntézu glykogenu v neuronech inhibují. Jedním mechanismem je degradace glykogen syntázy pomocí proteazomálního komplexu (Vilchez, 2007). Glykogen syntáza, která této degradaci unikne, je fosforylována, čímž je její aktivita inhibována. Tato regulace je pro neurony esenciální, při poruchách inhibice aktivity glykogen syntázy dochází k apoptóze nervových buněk.

5 Metabolický profil astrocytů

Astrocyty byly již v 19. století rozpoznány jako entity, které propojují oběhový systém a samotné neurony a zásobují neurony potřebnými látkami. Na rozdíl od neuronů mají astrocyty přímý kontakt s cévním systémem, svými koncovými výběžky obepínají kapiláry a skrze specifické receptory z nich přijímají nezbytné molekulární látky, např. glukózu. Zásadní rozdíl mezi astrocyty a neurony je dán právě specifitou receptorů na jejich povrchu. GLUT1 je transportér na povrchu astrocytů, zprostředkovávající příjem glukózy z kapilár do buněk. Dalšími koncovými výběžky obepínají astrocyty synapse. Toto anatomické uspořádání je v souladu s ANLS modelem, kdy astrocyty zprostředkovávají komunikaci jak s cévním řečištěm, tak samotnými neurony, mají přehled o neurální aktivitě a v případě zvýšené aktivity mohou snadno zajistit dostatečný přísun glukózy k pokrytí energetických požadavků.

Z anatomického (a následně metabolického) hlediska je také důležité, že astrocyty nefungují jako samostatné buňky, nýbrž tvoří syncytium. Astrocyty jsou vzájemně propojeny skrze gap junctions, což zajišťuje snadnou komunikaci mezi buňkami (Giaume, 2010). Je tedy možné, že než je substrát doručen neuronům, projde několika astrocyty, syncytium tedy umožňuje dopravu látek i na větší vzdálenost než by toho byla schopna jednotlivá buňka.

Co se zpracování glukózy v astrocytech týče, astrocyty jsou převážně glykolytické, přeměňují glukózu na laktát. Bylo poskytnuto několik důkazů pro toto tvrzení, například počet mitochondrií v astrocytech je signifikantně menší než v neuronech a analýza

transkriptomu taktéž potvrdila převahu glykolytických enzymů nad těmi oxidačně fosforylačními (Lovatt, 2007; Cahoy, 2008).

Dalším, neméně důležitým rysem astrocytů je tvorba glykogenu, zásobního polysacharidu skládajícího se z podjednotek glukózy. Tento zásobní polysacharid se nepodařilo nalézt v neuronech (Magistretti, 2008), kde je jeho tvorba inhibována dvěma mechanismy (viz. Metabolický profil neuronů). V případě zvýšení neurální aktivity může docházet ke štěpení glykogenu a takto získaná glukóza být opět přeměněna na laktát, který má pokrýt energetické nároky neuronů. Glykogen každopádně neslouží jen jako rezerva pro případ nouze, například při systémové hypoglykemii. Již v 60. letech minulého století byla publikována práce, v níž se uvádí, že zásoby glykogenu v mozku se utváří zejména během spánku a při probuzení jsou tyto zásoby aktivovány. Za současného stavu zvýšené synaptické aktivity a normální dostupnosti glukózy přesto docházelo k úbytku množství glykogenu uvnitř astrocytů, což naznačuje jeho využívání i v případech, kdy o glukózu jako takovou nouze není. Po přeměně glykogenu na laktát je tento transportován ven z astrocytárních buněk do extracelulárního prostoru a odsud je monokarboxylátovým přenašečem přenesen do neuronu. Došlo-li v průběhu experimentu k zablokování přenosu laktátu či k vyčerpání zásob glykogenu, neuron neměl dostatek energie k vedení akčního potenciálu (Brown, 2004). Zajímavostí je, že glykogen není pro mozek esenciální jen z energetického hlediska, výzkumy bylo zjištěno, že laktát odvozený z astrocytárního glykogenu hraje klíčovou roli při formování dlouhodobé paměti (Suzuki, 2011).

6 Regulační mechanismy energetického metabolismu

Energetický metabolismus mozku je velice úzce spřažen se synaptickou aktivitou. Tím pádem je nutné ho velice přísně regulovat v čase i prostoru.

6.1 Kontrola průtoku krve mozkiem

Regulace průtoku krve mozkiem je pro organismus zcela zásadní, neboť krev mozek zásobuje pro něj nezbytnými látkami jako je glukóza a kyslík. Při nedostatečném zásobení určitých částí mozku kyslíkem či glukózou může docházet až ke smrti nervových buněk, či jejich těžkému poškození.

K zachování esenciálních funkcí má mozek mechanismus známý jako „neurovaskulární spřažení“. Tento mechanismus umožňuje zvýšit přítok krve do míst, která

právě byla aktivována, tento jev se také označuje jako „funkční hyperémie“. Aktivované oblasti mají zvýšené energetické nároky, neboť po proběhlém synaptickém a akčním potenciálu je nezbytné obnovit gradienty iontů na původní hodnoty, což je proces vyžadující mnoho molekul ATP (Attwell, 2001).

V současné době převládá názor, že důležitou roli při kontrole průtoku krve mozkem mají signály zprostředkované neurotransmitery (zvláště glutamát) a že astrocyty při této regulaci mají stěžejní pozici, neboť ze své anatomické podstaty komunikují jak se synaptickou štěrbinou, tak přímo s kapilárami. Bylo zjištěno, že při zvýšení neuronální aktivity a výlevu glutamátu dochází k uvolnění oxidu dusnatého (NO) z neuronů a následně derivátů kyseliny arachidonové z astrocytů. Tyto molekuly mají přímý vliv na regulaci průtoku krve mozkovou tkání. Neurony mohou tedy cévy ovlivňovat přímo i nepřímo (přes aktivaci astrocytů). Když se farmakologicky zablokují enzymy syntetizující NO a deriváty kyseliny arachidonové, dojde ke snížení funkční hyperémie (Offenhauser, 2005; St. Lawrence, 2003).

Podrobnějšími experimenty byl stanoven model výše uvedeného mechanismu: když je glutamát uvolněn do synaptické štěrbiny, dojde k aktivaci NMDA (N-methyl-D-aspartát) receptorů nacházejících se na povrchu nervových buněk. Tato aktivace má za následek tok vápenatých iontů z extracelulárního prostoru do neuronů, což aktivuje syntázu oxidu dusnatého (NOS). Po syntéze NO a jeho uvolnění ven z neuronů dochází k dilataci cév (Busija, 2007). Zda k dilataci dochází přímo díky účinkům NO či nepřímo, přes astrocyty (kdy NO slouží jako modulátor) se může lišit v různých částech mozku (Yang, 2003; Lindauer, 1999).

Jak již bylo zmíněno, existují důkazy, že deriváty kyseliny arachidonové, které jsou syntetizovány a posléze uvolňovány z astrocytů, slouží jako vazodilatátory. Mezi tyto deriváty se řadí prostaglandiny a epoxyeikosatrienová kyselina (Peng, 2004; Zonta, 2003). Syntézu samotné kyseliny arachidonové řídí signál přicházející z neuronů, v podobě glutamátu, který je přes astrocytární receptory schopen aktivovat molekulární kaskádu vedoucí k její tvorbě. Pro vazodilataci zprostředkovanou prostaglandiny *in vivo* předložil důkazy Takano ve svém článku z roku 2005 (Takano, 2005).

Proces regulace průtoku krve mozkem je složitý děj, při němž dochází k interakci a vzájemnému ovlivňování mnoha molekul a nelze určit jednu molekulu za stěžejní. Nicméně

bylo objeveno několik látek, které slouží jako signální molekuly z určité části přispívající k funkční hyperémii. Mezi ně patří například adenosin či laktát (Ido, 2001).

6.2 Kyslík jako signální molekula neurovaskulárního spřažení

Kyslík je nezbytný pro tvorbu jak oxidu dusnatého, tak derivátů kyseliny arachidonové, tedy molekul, jež hrají významnou roli při regulaci vazodilatace.

Bylo také zjištěno, že snížení koncentrace kyslíku v určité oblasti (a tím pádem vytvoření nedostatku energie nutné pro tvorbu ATP) vede k produkci laktátu a jeho transportu do mimobuněčného prostoru. Zde laktát inhibuje prostaglandinové receptory, čímž prostaglandiny nemohou být zpětně přijmuty do buněk a délka jejich působení (s vazodilatačním účinkem) na vaskulární systém je tak prodloužena (Gordon, 2008).

6.3 Pericyty

Pericyty jsou specializované buňky nacházející se v CNS a těsně obklopující kapiláry. Jelikož produkují kontraktilní proteiny, mají přímý vliv na konstrikci vaskulatury. Ze strukturního hlediska tvoří rozsáhlou vzájemně propojenou síť skrze gap junctions a šíření signálu je tím umocněno. Jelikož neurony se nacházejí blíže právě k pericytům než k samotným kapilárám, byla vyslovena možnost, že signální molekuly produkované neurony ovlivňují nejprve pericyty, které tuto změnu adresují dále k cévnímu systému. Nicméně detailní úloha tohoto typu buněk při regulaci krevního průtoku musí být ověřena *in vivo* (Lovick, 1999).

7 Závěr

Pro správné energetické fungování nervové tkáně je nutná velice přesná koordinace všech metabolických procesů, jak v čase, tak prostoru. Mozek si postupnou evolucí vyvinul komplexní mechanismy, které udržují jeho homeostázu a narušení těchto mechanismů vede k neurodegenerativním onemocněním. Jejich prevalence je v dnešní populaci stále vyšší, a k vývoji účinné terapie je proto nezbytné těmto mechanismům porozumět na hlubší úrovni.

Seznam použité literatury

- Attwell, D., Laughlin, S. B. (2001). An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21, 1133–1145.
- Boumezbeur, F., Petersen, K. F., Cline, G. W., Mason, G. F., Behar, K.L., Shulman, G. I., and Rothman, D. L. (2010). The contribution of blood lactate to brain energy metabolism in humans measured by dynamic ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *The Journal of Neuroscience*, 30, 13983–13991.
- Brown, A. M., Baltan Tekkök, S., Ransom, B. R. (2004). Energy transfer from astrocytes to axons: the role of CNS glycogen. *Neurochemistry International*, 45, 529–536.
- Busija, D. W., Bari, F., Domoki, F., Louis, T. (2007). Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of *N*-methyl-D-aspartate in cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 56, 89–100.
- Cahoy, J. D., Emery, B., Kaushal, A., Foo, L. C., Zamanian, J. L., Christopherson, K. S., Xing, Y., Lubischer, J. L., Krieg, P. A., Krupenko, S. A., Thompson, W. J., Barres, B. A. (2008). A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: a new resource for understanding brain development and function. *The Journal of Neuroscience*, 28, 264–278.
- Clarke, D. D., Sokoloff, L. (1999). Circulation and energy metabolism of the brain. In: Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects, G. J. Siegel, B. W. Agranoff, R. W. Albers, S. K. Fisher, and M. D. Uhler, eds. (New York: Lippincott-Raven), 637–669.
- Gallagher, C. N., Carpenter, K. L., Grice, P., Howe, D. J., Mason, A., Timofeev, I., Menon, D. K., Kirkpatrick, P. J., Pickard, J. D., Sutherland, G. R., et al. (2009). The human brain utilizes lactate via the tricarboxylic acid cycle: a ¹³C-labelled microdialysis and high-resolution nuclear magnetic resonance study. *Brain*, 132, 2839–2849.

- Giaume, C., Koulakoff, A., Roux, L., Holcman, D., Rouach, N. (2010). Astroglial networks: a step further in neuroglial and gliovascular interactions. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*, 87–99.
- Gordon, G. R. J., et al. (2008). Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature*, *456*, 745–749.
- Guzman, M., Blazquez, C. (2004). Ketone body synthesis in the brain: possible neuroprotective effects. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *70*, 287–292.
- Halestrap, A. P. (2012). The monocarboxylate transporter family - Structure and functional characterization. *IUBMB Life*, *64*, 1–9.
- Herrero-Mendez, A., Almeida, A., Fernández, E., Maestre, C., Moncada, S., Bolanos, J. P. (2009). The bioenergetic and antioxidant status of neurons is controlled by continuous degradation of a key glycolytic enzyme by APC/ C-Cdh1. *Nature Cell Biology*, *11*, 747–752.
- Ido, Y., Chang, K., Woolsey, T. A., Williamson, J. R. (2001). NADH: sensor of blood flow need in brain, muscle and other tissues. *The FASEB Journal*, *15*, 1419–1421.
- Kadekaro, M., Vance, W. H., Terrell, M. L., Gary Jr., H., Eisenberg, H. M., Sokoloff, L. (1987). Effects of antidromic stimulation of the ventral root on glucose utilization in the ventral horn of the spinal cord in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *84*, 5492–5495.
- LaManna, J. C., Salem, N., Puchowicz, M., Erokwu, B., Koppaka, S., Flask, C., Lee, Z. (2009). Ketones suppress brain glucose consumption. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *645*, 301–306.
- Lindauer, U., Megow, D., Matsuda, H., Dirnagl, U. (1999). Nitric oxide: a modulator, but not a mediator, of neurovascular coupling in rat somatosensory cortex. *The American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, *277*, H799–H811.

- Loaiza, A., Porras, O. H., Barros, L. F. (2003). Glutamate triggers rapid glucose transport stimulation in astrocytes as evidenced by real-time confocal microscopy. *The Journal of Neuroscience*, 23, 7337–7342.
- Lovatt, D., Sonnewald, U., Waagepetersen, H. S., Schousboe, A., He, W., Lin, J. H., Han, X., Takano, T., Wang, S., Sim, F. J., Goldman, S. A., Nedergaard, M. (2007). The transcriptome and metabolic gene signature of protoplasmic astrocytes in the adult murine cortex. *The Journal of Neuroscience*, 27, 12255–12266.
- Lovick, T. A., Brown, L. A., Key, B. J. (1999). Neurovascular relationships in hippocampal slices: physiological and anatomical studies of mechanisms underlying flow-metabolism coupling in intraparenchymal microvessels. *Neuroscience*, 92, 47–60.
- Mac, M., Nalecz, K. A. (2003). Expression of monocarboxylic acid transporters (MCT) in brain cells. Implication for branched chain alpha-ketoacids transport in neurons. *Neurochemistry International*, 43, 305–309.
- Magistretti, P. J. (2008). Brain energy metabolism. In: *Fundamental Neuroscience*, Squire, L., Berg, D., Bloom, F. E., eds., 3rd ed. (San Diego: Academic Press), 271–293.
- Offenhauser, N., Thomsen, K., Caesar, K., Lauritzen, M. (2005). Activity induced tissue oxygenation changes in rat cerebellar cortex: interplay of postsynaptic activation and blood flow. *The Journal of Physiology*, 565, 279–294.
- Pellerin, L., Magistretti, P. J. (1994). Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 10625–10629.
- Peng, X., Zhang, C., Alkayed, N. J., Harder, D. R., Koehler, R. C. (2004). Dependency of cortical functional hyperemia to forepaw stimulation on epoxygenase and nitric oxide synthase activities in rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 24, 509–517.

- Porras, O. H., Loaiza, A., Barros, L. F. (2004). Glutamate mediates acute glucose transport inhibition in hippocampal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 24, 9669–9673.
- Schurr, A., Miller, J. J., Payne, R. S., and Rigor, B. M. (1999). An increase in lactate output by brain tissue serves to meet the energy needs of glutamate-activated neurons. *The Journal of Neuroscience*, 19, 34–39.
- Simpson, I. A., Carruthers, A., Vannucci, S. J. (2007). Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27, 1766–1791.
- Smith, D., Pernet, A., Hallett, W. A., Bingham, E., Marsden, P. K., and Amiel, S. A. (2003). Lactate: a preferred fuel for human brain metabolism in vivo. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 23, 658–664.
- St. Lawrence, K. S., Ye, F. Q., Lewis, B. K., Frank, J. A., McLaughlin, A. C. (2003). Measuring the effects of indomethacin on changes in cerebral oxidative metabolism and cerebral blood flow during sensorimotor activation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 50, 99–106.
- Suzuki, A., Stern, S. A., Bozdagi, O., Huntley, G. W., Walker, R. H., Magistretti, P. J., Alberini, C. M. (2011). Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cell*, 144, 810–823.
- Takano, T., et al. (2005). Astrocyte mediated control of cerebral blood flow. *Nature Neuroscience*, 9, 260–267.
- van Hall, G., Stromstad, M., Rasmussen, P., Jans, O., Zaar, M., Gam, C., Quistorff, B., Secher, N. H., and Nielsen, H. B. (2009). Blood lactate is an important energy source for the human brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 29, 1121–1129.
- Vilchez, D., Ros, S., Cifuentes, D., Pujadas, L., Vallés, J., García-Fojeda, B., Criado-García, O., Fernández-Sánchez, E., Medrano-Fernández, I., Domínguez, J., García-Rocha, M., Soriano, E., Rodríguez de Córdoba, S., Guinovart, J. J. (2007). Mechanism

suppressing glycogen synthesis in neurons and its demise in progressive myoclonus epilepsy. *Nature Neuroscience*, 10, 1407–1413.

Yang, G., Zhang, Y., Ross, M. E., Iadecola, C. (2003). Attenuation of activity-induced increases in cerebellar blood flow in mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *The American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 285, H298–H304.

Zonta, M., et al. (2003). Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nature Neuroscience*, 6, 43–50.